

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
27 décembre 2002 (27.12.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 02/102347 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ : A61K 7/48

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR02/02114

(22) Date de dépôt international : 19 juin 2002 (19.06.2002)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :

01/08035

19 juin 2001 (19.06.2001)

FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
SOCIÉTÉ INDUSTRIELLE LIMOUSINE D'APPLI-
CATION BIOLOGIQUE (SILAB) [FR/FR]; Madrias,
F-19130 Objat (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : PAUFIQUE,
Jean-Jacques [FR/FR]; Madrias, F-19130 Objat (FR).

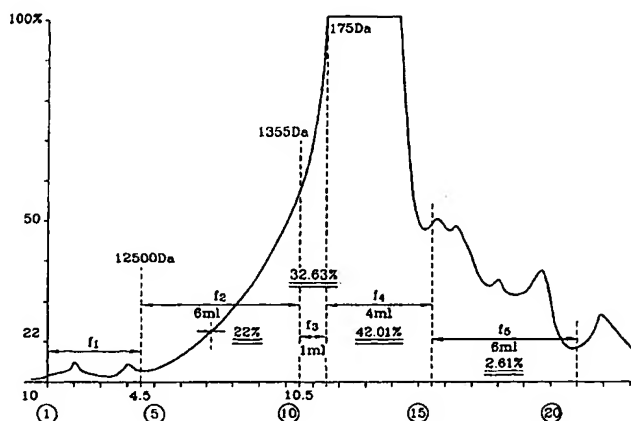
(74) Mandataire : POUCHUCQ, Bernard; Aquinov, 12, rue
Condorcet, F-33150 Cenon (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD FOR THE PREPARATION OF AN ACTIVE COMPONENT RICH IN DI- AND TRI-PEPTIDES, ACTIVE COMPONENT AND COMPOSITIONS THUS OBTAINED

(54) Titre : PROCÉDE DE PREPARATION D'UN PRINCIPE ACTIF RICHE EN DI- ET TRI-PEPTIDES, PRINCIPE ACTIF ET COMPOSITIONS OBTENUS



(57) Abstract: The invention relates to a method for the extraction of an active component with a nutritional effect on the skin, characterised in comprising the following steps: solubilisation of animal, vegetable or fish proteins in water, with a proportion of at least 5 % by weight; simultaneous or successive hydrolysis of the above suspension in the presence of one or several enzymes chosen from bacterial aminopeptidases applicable in neutral or acid medium, animal stomach proteases applicable in an acid medium, bacterial proteases applicable in a neutral medium, bacterial proteases applicable in an alkaline medium extracted from *Bacillus Licheniformis* or *Bacillus Subtilis*, bacterial endoproteases or pancreatic enzymes of animal origin; concentration of the active fraction of small peptides of molecular mass less than 1400 daltons and a sterilising filtration to give a total mesophilic flora of less than 100 germs/g and an absence of yeasts and moulds. The invention also relates to obtained active component and the cosmetic compositions comprising the above.

(57) Abrégé : L'objet de l'invention est un procédé d'extraction d'un principe actif ayant une action nutritionnelle de la peau, caractérisé en ce qu'il comprend la succession des étapes suivantes: solubilisation de protéines végétales, animales ou marines dans l'eau, à raison d'au moins 5 % en poids, hydrolyse(s) simultanée(s) et/ou successives de

[Suite sur la page suivante]

WO 02/102347 A2



DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

- relative au droit du déposant de revendiquer la priorité de la demande antérieure (règle 4.17.iii) pour la désignation suivante US
- relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv) pour US seulement

Publiée :

- sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

cette suspension en présence d'une ou plusieurs enzymes choisies parmi les: aminopeptidases bactériennes en milieu neutre ou acide, protéases stomacales d'origine animale utilisables en milieu acide, protéases bactériennes en milieu neutre, protéases bactériennes utilisables en milieu alcalin extraites de Bacillus Licheniformis ou de Bacillus Subtilis, endoprotéases bactériennes, ou enzymes pancréatiques d'origine animale, concentration de la fraction active en petits peptides de masse moléculaire inférieure à 1400 daltons, et filtration stérilisante pour atteindre une flore mésophile totale inférieure à 100 germes/g, et une absence de levures et de moisissures. L'invention couvre aussi le principe actif obtenu et les compositions cosmétiques l'incluant.

PROCEDE DE PREPARATION D'UN PRINCIPE ACTIF RICHE EN DI- ET TRI-PEPTIDES, PRINCIPE ACTIF ET COMPOSITIONS OBTENUS

La présente invention concerne un procédé de préparation d'un principe actif riche en di- et tri-peptides. L'invention couvre aussi le principe actif obtenu ainsi que des compositions l'incorporant.

Le but du principe actif ainsi extrait est notamment d'améliorer la prolifération
5 cellulaire, de compenser le stress, d'améliorer l'équilibre indispensable à la diététique cellulaire, d'augmenter les défenses de la peau, d'augmenter l'oxygénation de la peau et de diminuer les rides.

Dans le cas de la peau, le principe actif selon la présente invention permet d'apporter rapidement des éléments nutritionnels à la peau par les remarquables
10 capacités d'assimilation qu'il présente.

Cette forte capacité d'assimilation repose sur le fait que sa structure peptidique a un faible poids moléculaire.

Ces unités peptidiques purifiées ainsi apportées accélèrent l'assimilation cellulaire et vitalisent la peau.

15 Une peau ainsi nourrie et revitalisée permet aussi de lutter contre le vieillissement tissulaire et notamment de combler les rides.

Dans l'art antérieur, il a été décrit un procédé de fabrication d'un hydrolysate de protéines riches en di- et tri-peptides pour la nutrition artificielle et utilisées en diététique.

20 Ce procédé consiste à soumettre une protéine du blanc d'œuf ou de la caséine, à l'action simultanée ou successive d'enzymes, en l'occurrence une protéase bactérienne utilisable en milieu neutre, une protéase bactérienne utilisable en milieu alcalin et une enzyme pancréatique d'origine animale.

Le but de la présente invention est d'obtenir un hydrolysât de protéines avec un faible poids moléculaire pour être absorbée par la peau.

Dans l'art antérieur, le secteur concerné est l'alimentation artificielle si bien que le poids moléculaire n'est pas une contrainte. Par contre ces produits
5 obtenus par les procédés connus ne permettent pas d'applications en cosmétologie.

L'invention est maintenant décrite en détail, tant dans ses étapes d'obtention que dans la caractérisation du principe actif obtenu et à travers des résultats d'essais montrant les activités du produit obtenu.

10 La description est focalisée sur un exemple à partir de protéines végétales obtenues à partir de riz (*Oryza Sativa*) mais doit être élargi comme cela est indiqué dans les exemples complémentaires pour, entre autres, du soja (*Glycine max*), des pépins de courges (*Cucurbita Pepo*) ou de sésame (*Sesamum indicum*) ou des pois (*Pisum Sativum*) ou encore du lupin (*Lupinus albus*), du cajou, du
15 sisymbre, ou des amandes. Plus généralement, pour la mise en œuvre du procédé selon l'invention et pour l'élaboration des produits à partir de ce procédé, on retiendra toutes protéines végétales issues de farine, du tourteau, d'isolat, de concentrat et toutes protéines d'origine animale ou marine.

L'invention concerne un procédé d'extraction d'un principe actif ayant une
20 action nutritionnelle de la peau, caractérisé en ce qu'il comprend la succession des étapes suivantes :

- solubilisation de protéines végétales, animales ou marines dans l'eau, à raison d'au moins 5% en poids.
- hydrolyse(s) simultanée(s) et/ou successives de cette suspension en présence
25 d'une ou plusieurs enzymes choisies parmi les :
 - aminopeptidases bactériennes en milieu neutre ou acide,
 - protéases stomacales d'origine animale utilisables en milieu acide,
 - protéases bactériennes en milieu neutre,

- protéases bactériennes utilisables en milieu alcalin extraites de *Bacillus Licheniformis* ou de *Bacillus Subtilis*,
- endoprotéases bactériennes, ou
- enzymes pancréatiques d'origine animale.

- 5 - concentration de la fraction active en petits peptides de masse moléculaire inférieure à 1 400 daltons, et
- filtration stérilisante pour atteindre une flore mésophile totale inférieure à 100 germes /g, et une absence de levures et de moisissures.

Les protéines végétales sont obtenues à partir notamment de céréales,
10 d'oléagineux, de légumineuses et plus particulièrement de riz (*Oryza Sativa*), de soja (*Glycine max*), de pépins de courges, de sésame (*Sesamum indicum*) ou de pois (*Pinum sativum*)

Le principe actif obtenu par la mise en œuvre du procédé présente :

- une faible masse moléculaire inférieure à 1 400 daltons
- 15 - un taux de matière sèche compris entre 20,0 et 150,0 g/l
- un pH compris entre 4,0 et 10,0 et
- une teneur en protéines comprise entre 10,0 et 100,0 g/l

Plus particulièrement :

- un taux de matière sèche compris entre 50,0 et 80,0 g/l,
- 20 - un pH compris entre 5,0 et 7,0 et
- une teneur en protéine est comprise entre 40,0 et 60,0 g/l.

La masse moléculaire est répartie de la façon suivante :

- 20% à 60% ayant une masse moléculaire inférieure à 1400,
- 30% à 50% ayant une masse moléculaire comprise entre 75 et 175 daltons, et
- 25 - 0 à 5% ayant une masse moléculaire inférieure à 75 daltons.

L'invention couvre aussi la composition cosmétique nutritionnelle comprenant 0,10% à 5,00% de principe actif, associé à des excipients et sous une forme galénique adaptée tel que : crème, gel, onguent, lotion, lait, émulsion ou solution.

Les différentes figures annexées représentent :

- figure 1, une courbe de distribution des fractions peptidiques obtenues dans le cas du riz,
- figures 2A-2E, des tableaux de résultats sur la prolifération des fibroblastes au cours du temps, respectivement pour du riz, du soja, des pois, des pépins de courge et du sésame,
- figure 3, tableau des résultats sur la prolifération de fibroblastes comparée à d'autres compositions,
- figures 4A-4E, tableau des résultats de récupération cellulaire après un stress UV,
- figure 5, tableau des résultats de l'activité stimulante du principe actif,
- figures 6A et 6B, des tableaux de résultats de pression partielle d'oxygène et de dioxyde de carbone,
- figures 7A et 7B, des tableaux de résultats d'analyses sur volontaires concernant l'oxygénation tissulaire, et
- figure 8, tableau récapitulant les améliorations vis-à-vis des rides.

1/PROCEDE D'EXTRACTION D'UN PRINCIPE ACTIF RICHE EN DI- ET TRI-PEPTIDES

1-1/Le premier produit selon l'invention dont on souhaite obtenir un concentrat riche en di et tri peptides constituant le principe actif selon l'invention, est du riz, notamment la variété Oryza Sativa.

Le procédé consiste à réaliser la succession des étapes suivantes :

- solubilisation de protéines végétales à partir d'un concentrat de protéines dans l'eau, notamment de protéines de riz, plus particulièrement la variété Oryza Sativa, à raison d'au moins 5% en poids.
- hydrolyse(s) simultanée(s) et/ou successives de cette suspension en présence d'une ou plusieurs enzymes choisies parmi les :
 - aminopeptidases bactériennes en milieu neutre ou acide,

- protéases stomacales d'origine animale utilisables en milieu acide,
- protéases bactériennes en milieu neutre,
- protéases bactériennes utilisables en milieu alcalin extraites de *Bacillus Licheniformis* ou de *Bacillus Subtilis*,
- 5 - endoprotéases bactériennes, ou
- enzymes pancréatiques d'origine animale.
- concentration de la fraction active en petits peptides de masse moléculaire inférieure à 1 400 daltons, et
- filtration stérilisante pour atteindre une flore mésophile totale inférieure à
- 10 100 germes /g, et une absence de levures et de moisissures.

On réalise dans le cas du riz une courbe représentée sur la figure 1 sur une colonne commercialisée sous la dénomination Superdex Peptide. On utilise une solution tampon phosphate 0,02 mole additionnée de 0,25 mole NaCl et on

15 travaille à pH 7,2.

Le débit sur la colonne est de 0,25 ml/mn et se traduit sur papier par 0,25 cm/mn.

On constate que la fraction inférieure à 1400 daltons est répartie de la façon suivante :

20 Pour le principe actif riche en Di- et Tri-peptides de riz :

- f3 : environ 33% ($1400 < \text{masse moléculaire} < 175$), et
- f4 : environ 42% ($175 < \text{masse moléculaire} < 75$), et
- f5 : environ 3% ($\text{masse moléculaire} < 75$),

c'est-à-dire que les peptides de faibles masses moléculaires représentent au

25 moins 60% à 75% de la fraction totale inférieure à 1400 daltons.

Ces structures peptidiques selon l'invention sont spécifiques et de faible masse moléculaire, permettant ainsi les applications à la cosmétique comme le montrent les résultats qui vont suivre.

2/ CARACTERISATION DU PRINCIPE ACTIF OBTENU

Taux de matière sèche :

- Le taux de matière sèche est obtenu par passage du principe actif extrait dans
- 5 une étuve à 105°C jusqu'à obtention d'un poids constant. La quantité de matière sèche obtenue, pour chacun d'eux, est comprise entre 50 et 150 g/l.

On peut citer plusieurs sources de protéines utilisées qui donnent les résultats suivants :

- Taux de matière sèche de riz : entre 50 et 80g/l
- 10 Taux de matière sèche de pépins de courge : entre 50 et 60g/l
- Taux de matière sèche de soja : entre 50 et 60g/l
- Taux de matière sèche de sésame : entre 50 et 60g/l
- Taux de matière sèche de pois : entre 90 et 110g/l

15 Mesure du pH :

Le pH est mesuré par la méthode potentiométrique à température ambiante. Le pH est compris entre 4,0 et 10, plus particulièrement entre 5,0 et 7,0.

pH de riz : 7,0

pH de pépins de courge : 7,0

- 20 pH de soja : 7,0

pH de sésame : 7,0

pH de pois : 7,0

Détermination de la teneur en azote :

- 25 La détermination est réalisée par la méthode de Kjeldhal ou Lowry.

La teneur en protéines déduite, quel que soit la source de protéines parmi les produits retenus, est comprise entre 10 et 100 g/l et plus particulièrement entre 35 et 90 g/l.

Teneur en azote (Di- et Tri-peptides de riz) : entre 35 et 90g/l

Teneur en azote (Di- et Tri-peptides de pépins de courge) : entre 30 et 60g/l

Teneur en azote (Di- et Tri-peptides de soja) : entre 30 et 60g/l

5 Teneur en azote (Di- et Tri-peptides de sésame) : entre 30 et 60g/l

Teneur en azote (Di- et Tri-peptides de pois) : entre 70 et 100g/l

3/ EFFETS DU PRINCIPE ACTIF SUR LA PROLIFERATION DE FIBROBLASTES HUMAINS

10 3-1 Effets au cours du temps :

L'étude est conduite sur des fibroblastes humains auxquels on ajoute le principe actif riche en Di- et Tri-peptides obtenu à partir des différentes sources selon l'invention à 1%, et 2% en volume.

Pour le principe actif issu du riz, les tests sont effectués après 48 et 72 heures, tandis que les tests sont analysés seulement après 72 heures pour le principe actif issu des autres produits de base, on mesure le pourcentage de prolifération.

Les résultats sont consignés dans le tableau des figures 2A à 2E.

Le principe actif riche en di- et tri-peptides, quelle que soit son origine, augmente fortement la prolifération des cellules, de façon dose dépendante, plus particulièrement après 72 heures de traitement.

3-2 Influence de la structure chimique

Le but est d'étudier l'influence de la structure biochimique du principe actif, sur le métabolisme de fibroblastes humains en culture.

A cet effet, on compare les effets de différentes compositions sur la prolifération après 72 heures de traitement avec le principe actif selon la présente invention obtenu à partir:

- de riz avec 75% de peptides de masse moléculaire inférieure à 1 400 daltons.
 - mélange modèle d'acides aminés, sans une structuration en petits peptides,
 - solution de protéines hautement structurées, et
 - solution de peptides non sélectionnés avec seulement une fraction peptidique
- 5 de masse moléculaire inférieure à 1400 daltons

On constate à travers les résultats du tableau de la figure 3, que le principe actif riche en di- et tri-peptides, selon la présente invention, augmente considérablement la prolifération des fibroblastes. Sa structure peptidique optimale est adaptée à la prolifération cellulaire.

- 10 Les peptides non sélectionnés ne permettent pas d'améliorer l'activité de prolifération des cellules autant que le principe actif.

4/ EFFET DU PRINCIPE ACTIF A COMPENSER LES EFFETS D'UN STRESS SOLAIRE

- Cette étude a pour but de démontrer que le principe actif selon l'invention
- 15 favorise la récupération après un stress, par exemple un stress solaire.

Pour ce test, on mesure la viabilité cellulaire des fibroblastes humains soumis à des irradiations UVA et UVB, en présence ou non du principe actif selon la présente invention après 48 ou 72 heures.

- Les doses sont de 6 joules/cm² en UVA et de 0,48 joules/cm² en UVB et les
- 20 résultats sont exprimés en densité optique à 540 nm.

On constate dans les tableaux des figures 4A à 4E que le stress solaire induit une forte toxicité et provoque la mort de 60% des fibroblastes. Le principe actif à 1% permet par exemple d'augmenter le nombre de cellules en activant les fonctions métaboliques des cellules, de 35% pour le principe actif issu du riz

5/ EFFET DU PRINCIPE ACTIF SUR L'EXPRESSION DES ARNm

Le principe actif, issu des protéines de riz, a une action sur les ARN messagers codant pour les collagènes VII et III et la fibronectine en milieu nutritif carencé.

- 5 En effet, des fibroblastes humains sont incubés dans un milieu complet et dans un milieu nutritif carencé, en présence du principe actif.

Les résultats obtenus sont sensiblement identiques et sont exprimés en pourcentage d'expression de l'ARNm de la protéine étudiée par rapport à un témoin.

- 10 Ils font l'objet du tableau de la figure 5.

Le principe actif augmente de façon significative l'expression des ARNm codant pour les collagènes III, VII et la fibronectine donc des protéines constitutives du derme. Le principe actif permet de maintenir l'équilibre indispensable à la diététique cellulaire.

15

6/ EFFET DU PRINCIPE ACTIF SUR LE METABOLISME PAR MESURE DE SYNTHÈSE D'ATP

Cette étude permet d'évaluer l'activité stimulante du principe actif selon la présente invention sur le stock d'adénosinetriphosphate intracellulaire.

On applique sur plusieurs épidermes une formulation de chacun du principe actif

- 20 à 4% selon la présente invention, après 24 heures de contact, on dose l'ATP par luminométrie à l'aide d'un test du commerce.

On remarque dans le tableau de la figure 6 qui regroupe les résultats quasiment similaires, quelle qu'en soit la source, que les réserves d'ATP intracellulaire sont diminuées de 37% pour orienter l'énergie vers la synthèse cellulaire, augmentant

- 25 ainsi les capacités de défense de la peau.

7/ EFFET DU PRINCIPE ACTIF SUR L'OXYGENATION TISSULAIRE

L'objectif de cette étude est de quantifier, in vivo, sur l'homme, l'effet oxygénant du principe actif, obtenu à partir de protéines de riz.

A cet effet, on mesure les pressions partielles d'oxygène et de dioxyde de carbone transcutanées sur une zone traitée avec une formulation à 4% du principe actif contre placebo.

Les mesures sont réalisées avant et après 28 jours d'applications bi-quotidiennes du principe actif.

Les mesures de pression partielle sont effectuées de façon connue pour l'oxygène par mesure des variations de microcourants électriques et pour le dioxyde de carbone par détermination du pH d'un électrolyte également par mesure des variations de microcourants électriques. Les variations du pH sont proportionnelles au logarithme des variations de la pression partielle en dioxyde de carbone.

Les mesures sont exprimées en mm de mercure.

Les tableaux des figures 7A et 7B regroupent les résultats très proches pour le principe actif et font apparaître une augmentation de la pression partielle d'oxygène chez 54% des volontaires et de la pression partielle de CO₂ chez 61% des volontaires.

Ainsi, on constate que le principe actif tend à permettre une meilleure diffusion de l'oxygène dans les cellules et les tissus.

8/ EFFET ANTI-RIDES DU PRINCIPE ACTIF

Le but de l'étude est de vérifier sur 20 volontaires l'efficacité anti-rides du principe actif formulé à 5% contre placebo, appliqué biquotidiennement pendant deux mois.

L'étude anti-rides consiste à analyser par observation des empreintes des pattes d'oie, à l'aide d'un profilomètre muni d'un analyseur d'images.

Les quatre paramètres étudiés sont :

- surface totale ridée,
 - longueur des rides,
 - profondeur des rides, et
- 5 - nombre de rides.

Les résultats sont regroupés dans le tableau de la figure 8.

L'analyse montre une forte diminution de 32% de la surface totale ridée et de 24% de la longueur des rides et la distribution confirme que cette diminution intéresse 70% des volontaires.

- 10 L'invention couvre aussi les compositions cosmétiques nutritionnelles incluant , 0,10% à 5,00% de principe actif, associé à des excipient, sous une forme galénique adaptée tel que : crème, gel, onguent, lotion, lait, émulsion ou solution.

REVENDEICATIONS

1. Procédé d'extraction d'un principe actif ayant une action nutritionnelle de la peau, caractérisé en ce qu'il comprend la succession des étapes suivantes :
- solubilisation de protéines végétales, animales ou marines dans l'eau, à raison d'au moins 5% en poids.
- 5 - hydrolyse(s) simultanée(s) et/ou successives de cette suspension en présence d'une ou plusieurs enzymes choisies parmi les :
- aminopeptidases bactériennes en milieu neutre ou acide,
 - protéases stomacales d'origine animale utilisables en milieu acide,
 - protéases bactériennes en milieu neutre,
 - 10 - protéases bactériennes utilisables en milieu alcalin extraites de *Bacillus Licheniformis* ou de *Bacillus Subtilis*,
 - endoprotéases bactériennes, ou
 - enzymes pancréatiques d'origine animale.
- concentration de la fraction active en petits peptides de masse moléculaire
- 15 inférieure à 1 400 daltons, et
- filtration stérilisante pour atteindre une flore mésophile totale inférieure à 100 germes /g, et une absence de levures et de moisissures.
2. Procédé d'extraction d'un principe actif ayant une action nutritionnelle de la peau selon la revendication 1, caractérisé en ce que les protéines végétales sont
- 20 obtenues à partir notamment de céréales, d'oléagineux, de légumineuses.
3. Procédé d'extraction d'un principe actif ayant une action nutritionnelle de la peau selon la revendication 2, caractérisé en ce que les protéines végétales sont obtenues à partir de riz (*Oryza Sativa*), de soja (*Glycine max*), de pépins de courges, de sésame (*Sesamum indicum*) ou de pois (*Pinum sativum*)

4. Principe actif obtenu par la mise en œuvre du procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il présente :

- une faible masse moléculaire inférieure à 1 400 daltons
- un taux de matière sèche compris entre 20,0 et 150,0 g/l

5 - un pH compris entre 4,0 et 10,0 et

- une teneur en protéines comprise entre 10,0 et 100,0 g/l

5. Principe actif selon la revendication 4, caractérisé en ce qu'il présente :

- un taux de matière sèche compris entre 50,0 et 80,0 g/l,
- un pH compris entre 5,0 et 7,0 et

10 - une teneur en protéine est comprise entre 40,0 et 60,0 g/l.

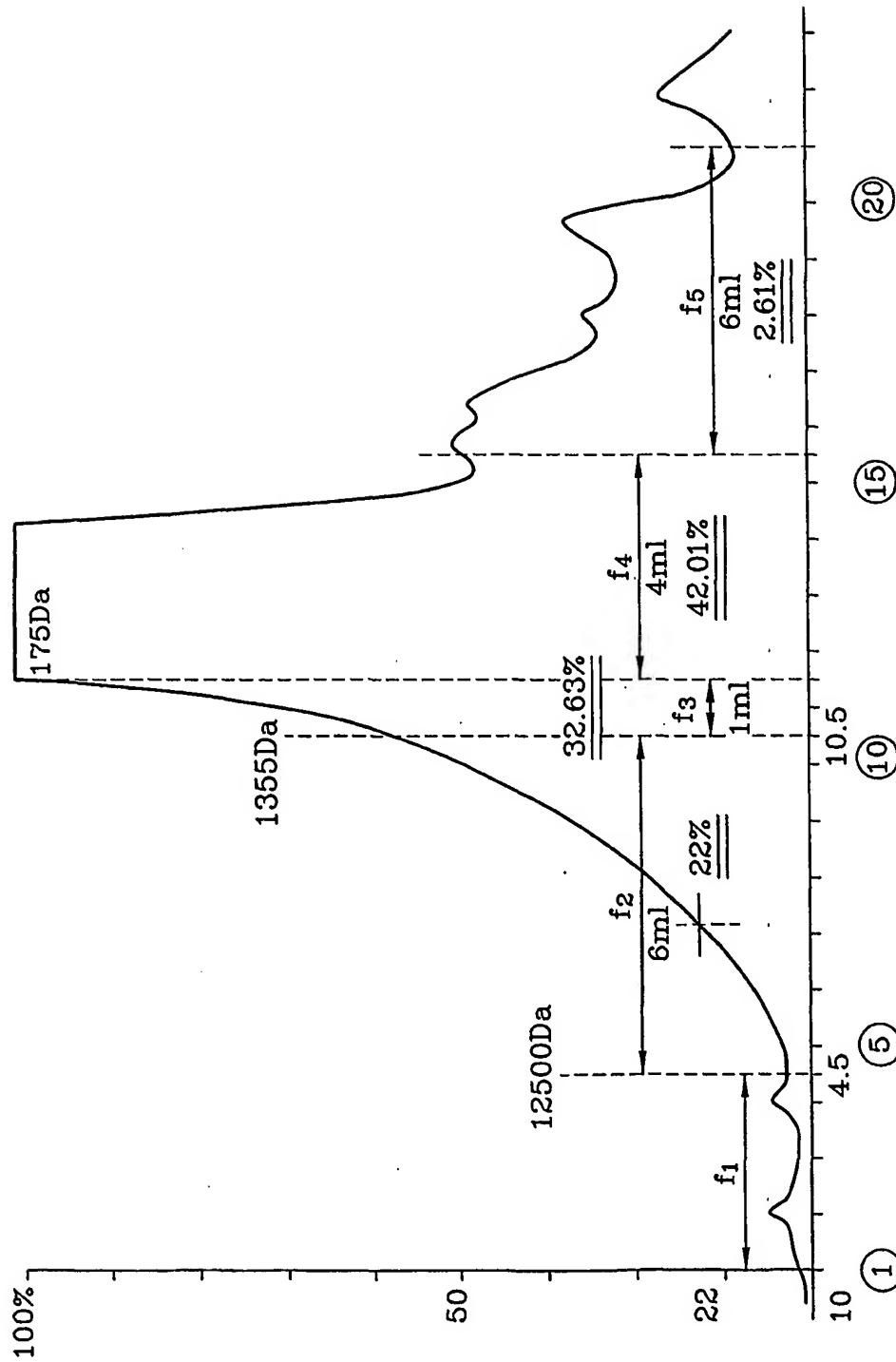
6. Principe actif selon la revendication 4, caractérisé en ce que la masse moléculaire, est répartie de la façon suivante :

- 20% à 60% ayant une masse moléculaire inférieure à 1400,
- 30% à 50% ayant une masse moléculaire comprise entre 75 et 175 daltons, et

15 - 0 à 5% ayant une masse moléculaire inférieure à 75 daltons.

7 . Composition cosmétique nutritionnelle, caractérisée en ce qu'elle comprend 0,10% à 5,00% de principe actif selon l'une des revendications 4 à 6, associé à des excipients et sous une forme galénique adaptée tel que : crème, gel, onguent, lotion, lait, émulsion ou solution.

1/7

**Fig. 1**

2/7

	48h	72h
Témoin	100%	100%
Principe actif 1% à partir de riz	141%	216%
Principe actif 2% à partir de riz	172%	225%

Fig. 2A

Témoin	100%
Principe actif SOJA 1%	247%
Principe actif SOJA 2%	246%

Fig. 2B

Témoin	100%
Principe actif POIS 1%	269%
Principe actif POIS 2%	308%

Fig. 2C

Témoin	100%
Principe actif COURGE 1%	192%
Principe actif COURGE 2%	247%

Fig. 2D

3/7

Témoin	100%
Principe actif SESAME 1%	269%
Principe actif SESAME 2%	308%

Fig. 2E

		Prolifération cellulaire à 72h
Témoin		100%
Principe actif à partir de riz	1%	216%
	2%	225%
Mélange acide aminés	1%	99%
	2%	96%
Protéines hautement structurées	1%	132%
	2%	99%
Peptides de riz non sélectionnés	1%	160%
	2%	180%

Fig. 3

4 / 7

	48h		72h	
	Densité optique	Taux de récupération cellulaire	Densité optique	Taux de récupération cellulaire
Témoin	0.543		0.632	
Témoin irradié	0.156		0.226	
Témoin irradié avec PA 1%	0.184	+7.2%	0.369	+35.2%
Témoin irradié avec PA 2%	0.185	+7.5%	0.268	+10.3%

Fig. 4A

	Taux de récupération
Témoin SOJA	
Témoin irradié 1%	103%
Témoin irradié 2%	100%

Fig. 4B

	Taux de récupération
Témoin POIS	
Témoin irradié 1%	153%
Témoin irradié 2%	180%

Fig. 4C

	Taux de récupération
Témoin COURGE	
Témoin irradié 1%	103%
Témoin irradié 2%	105%

Fig. 4D

5/7

	Taux de récupération
Témoin SESAME	
Témoin irradié 1%	115%
Témoin irradié 2%	132%

Fig. 4E

	% ARNm avec principe actif à 2%	
	milieu nutritif carencé	milieu nutritif complet
Collagène III	118%	110%
Collagène VII	169%	106%
Fibronectine	142%	122%

Fig. 5

		Témoin	Principe actif à 4%
Epiderme	1	6.7	
	2	6.5	3.8
	3	5.7	4.2
Moyenne		6.3	4.0
Δ %			-37%

Fig. 6

6/7

Volontaire		Principe actif		placebo		ΔT
		J0	J28	J0	J28	
	1	9	20	13	15	9
	2	51	59	56	56	8
	3	56	43	37	40	-16
	4	-	-	-	-	-
	5	23	38	29	45	-1
	6	-	-	-	-	-
	7	17	23	15	40	-19
	8	26	24	45	24	19
	9	39	7	18	7	-21
	10	49	40	48	50	-11
	11	17	23	21	23	4
	12	23	24	39	31	9
	13	24	13	11	18	-18
	14	40	46	53	29	30
	15	7	9	30	31	1

Fig. 7A

Volontaire		Principe actif		placebo		ΔT
		J0	J28	J0	J28	
	1	40	40	50	46	4
	2	52	47	48	39	4
	3	43	40	48	46	-1
	4	-	-	-	-	-
	5	42	49	51	52	6
	6	-	-	-	-	-
	7	50	51	51	51	1
	8	46	36	39	32	-3
	9	39	42	48	50	1
	10	53	51	44	46	-4
	11	40	35	46	39	2
	12	44	42	34	36	-4
	13	43	43	53	48	5
	14	51	48	41	42	-4
	15	34	36	43	42	3

Fig. 7B

7/7

	Principe actif		placebo		Δ
	J0	J56	J0	J56	
Surface totale ridée	6.58	3.32	6.16	4.47	-32.1%
Longueur totale des rides	58.04	31.26	54.18	37.34	-24.1%
Profondeur des rides	54.00	53.17	51.21	55.29	-8.5%
Nombre des rides	102	63	99	78	-21.0%

Fig. 8